Aus den chemischen Laboratorium
(Privatdoz. Dr. W. Schuler) der medizinischen Klinik Erlangen
(Direktor Professor Dr. L. R. Müller).

Über
enterale und perorale Insulinwirkung
V. Beitrag.

Inaugural=Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der hohen medizinischen Fakultät
der Friedrich=Alexanders=Universität
Erlangen

vorgelegt von

Grete Zimmermann

aus Erlangen.

Tag der mündlichen Prüfung: 31. 1. 1936.

1936

Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstraße 3, Telefon 2521

1936/166

Referent: Privatdozent Dr. med. W. Schuler.

Dekan: Geheimrat Professor Dr. med. F. Jamin.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Mutter in Dankbarkeit.

Einteilung.

I. Theoretischer Teil

A. Einleitung.

Gesichtspunkte unter welchen bisher Versuche angestellt wurden:

1. Zusätze zu Insulin um eine raschere und bessere Resorption zu erzielen.
2. Zusätze zu Insulin um es vor den Verdauungsfermenten zu schützen.

B. Bestätigung der Versuche von R. Werner und deren Fortsetzg. unter neuen Gesichtspunkten

1. Schützende Eigenschaft von inaktiviertem Pepsin.
2. Verschiedene Zusätze zum Insulin-Pepsingemisch.
3. Vor-Versuche, Insulin durch Zusatz von Verdauungsprodukten vor der Verdauung zu schützen.

II. Experimenteller Teil

1. Versuchsanordnung.
2. Nüchternblutzucker beim Kaninchen.
3. Subcutane Insulinwirkung.
4. Verschiedene Mengen von zugesetztem Pepsin.
5. Verschiedene Zusätze zum Insulin-Pepsingemisch.
6. Versuche mit Zusätzen von Verdauungsprodukten.

III. Zusammenfassung.

Mit Entdeckung des Insulins durch Banting und Best im Jahre 1922 wurde der Medizin das spezifische Heilmittel gegen die Zuckerkrankheit geschenkt. Leider ist man heute wie damals noch darauf angewiesen, dieses souveräne und einzigwirksame Mittel dem Kranken auf parenteralem Wege zu verabreichen, denn nur diese Methode erlaubt eine genaue Dosierung und garantiert eine volle Wirksamkeit auf den Blutzucker. Die vielen Nachteile, die die notwendigen Injektionen mit sich bringen, sowohl für den Arzt als auch besonders für den Patienten, ließen viele Forscher schon frühzeitig an die Lösung des Problems der peroralen oder enteralen Insulintherapie herantreten. Besteht doch heute kein Zweifel an der Tatsache, wie durch die Erfolge der neuerdings mancherorts eingerichteten Diabetiker-Beratungs- und Diätstellen bewiesen ist, daß der unbefriedigende Erfolg der Insulintherapie weniger die Folge finanzieller Schwierigkeiten als vielmehr die Folge der außerordentlich unangenehmen Notwendigkeit dauernder Injektionen ist.

Grundlegend bei allen Forschungen war die Tatsache, daß Insulin als echter Eiweißkörper im Magen-Darmkanal verdaut und damit wirkungslos gemacht wird. Alle theoretischen Gedankengänge mußten daher darauf hinauslaufen den Eiweißkörper Insulin vor der zerstörenden Verdauung zu schützen. Je nach den angewanden Schutzmaßnahmen kann man die bereits veröffentlichten Versuche in 2 große Gruppen unterteilen.

Die erste Gruppe ging von dem Grundgedanken aus die Resorption des Insulins durch Zugabe von resorptionsbeschleunigenden Stoffen noch vor der Zerstörung durch die Verdauung zu vollziehen.

In dieser Absicht wurden erstmals die sogenannten Insulin-Saponingemische peroral verabreicht.

Pharmakologisch wirken die Saponine auf die Schleimhäute hyperaemisierend durch Setzen einer leichten Entzündung. Die dadurch erzielte stärkere Durchblutung der Oberfläche der Schleimhäute läßt eine gute und raschere Resorption der beigegebenen Stoffe wohl denkbar erscheinen. Mit Saponin-Insulin-Versuchen

beschrieben F. Lasch und S. Brügel (1) an Tier und Mensch weitgehende Blutzuckersenkungen. Auch W. Löwenstein und O. Merdinger (2) konnten in einigen Versuchen eine sichere Wirkung feststellen.

Eine praktische Bedeutung kommt dieser Art der Versuche wegen der nicht ganz ungefährlichen Wirkung der Saponine auf die Schleimhäute besonders bei dem erforderlichen Dauergebrauch nicht zu. Auch konnten E. Samek (3), E. Dingemanse und E. Laqueur (4) bei Nachprüfung dieser Versuche selbst bei höheren Insulindosen keine oder nur verschwindend geringe Effekte erzielen.

In die gleiche Gruppe, weil ebenfalls vom selben Gedanken ausgehend — das Insulin einer guten Resorption zugängig zu machen — gehören die Versuche mit Galle und Gallensäurezusatz.

Den Anlaß gab die von H. Wieland festgestellte Tatsache, daß Stoffe wie Chinin, Strychnin, die für sich allein peroral gegeben nicht zur Wirksamkeit gelangen, in Verbindung mit Galle oder Gallensäure peroral verabreicht gute Wirkungen entfalten. Dies ist begründet in der Eigenschaft der Gallensäure für diese Stoffe eine bessere Löslichkeit und eine leichte Resorption zu schaffen. Unter diesem Leitgedanken stehen die Versuche von R. Stephan (5) mit dem sogenannten Cholosulin = Insulin + Desoxycholsäure, womit er auch prompte Blutzuckersenkungen bei Diabetikern gesehen haben will. Auch von W. Fornet (6) wurde behauptet, daß die Galle als Resorptionsvermittler für Insulin tätig sei, jedoch waren die Ergebnisse nicht überzeugend.

Im Gegensatz zu den Angaben Stephans mit Cholosulin stehen die Versuchsergebnisse von P. Martini und W. Nagel (7) sowie V. van der Reis und G. Schlomka (8) die keinen Erfolg zeigten. Auch die Untersuchungen von H. Steinitz (9) über das Cholosulin bei Diabetikern zeigten nicht die günstigen Resultate Stephans. R. Kühn konnte selbst in Versuchen mit den auf Insulin so gut ansprechenden Kaninchen durch das Kombinationsprodukt Insulin-Galle keine Blutzuckersenkung verzeichnen.

Teils in diese erste Gruppe, teils als Uebergang in die zweite große Gruppe der Versuche peroraler Insulinverabreichung gehören die Experimente mit Leber und Leberextrakt als Zusatzstoffe. Die theoretische Ueberlegung, die Anlaß zu den Versuchen mit Leber und Leberextrakt als Resorptionsvermittler gab, war folgende: Blottner und Murphie (11) erzielten allein durch Verabreichung von Leber und Leberextrakten beim Zuckerkranken eine deutliche Blutzuckersenkung. Diese Wirkung erklärte Lombardi (12) durch die in der Leber vorhandenen geringen Insulin-

mengen, die durch die Anwesenheit der Leber zu einer beschleunigten Resorption vom Magen aus gelangen. Solche Versuche wurden ausgeführt von Murlin, Pierce und Gregg (13) und ergaben angeblich eine gute und rasche Resorption des Insulins vom Verdauungstraktus aus.

F. Bertram, S. Horwitz und E. Wahncau (14) fanden ebenfalls eine sichere Insulinwirkung auf den Blutzuckerspiegel, aber nur bei nüchternem Magen, während beim fortlaufend ernährten Kranken kein Insulinerfolg mehr zu erkennen war. Diese Erscheinung gab Anlaß zu Ueberlegungen, die die darauffußenden Versuche in die zweite große Gruppe der Versuche der peroralen Insulintherapie verweisen.

Die zweite große Gruppe bisheriger Versuche Insulin vor der Verdauung zu schützen, weist als Leitgedanken das Suchen eines Zusatzstoffes auf, der das Insulin bei gewöhnlicher Resorption vor dem Angriff der Verdauungsfermente entweder auf mechanischem oder auf chemischem Wege zu schützen vermag.

So lassen die verschiedenen Ergebnisse der Insulinwirkung bei Zusatz von Leber bei nüchternen und fortlaufend ernährten Patienten den Schluß zu, daß die Leber außer ihren resorptionsfördernden Eigenschaften auch noch Schutzstoffe gegen die Verdauungsfermente des Magens, nicht aber gegen die des Darmes enthält, denn bei nüchternem Kranken ist ohne Zweifel das Leber-Insulingemisch im Magen einer längeren, wenn auch abgeschwächten Verdauung ausgesetzt, während bei normaler Ernährung der Aufenthalt im Magen nur kurz ist und das Insulin so rascher den zerstörenden Darmfermenten ausgeliefert wird.

Einen mechanischen Schutz des Insulins vor den proteolytischen Fermenten versuchte E. Salèn (15) durch Zusatz von Olivenöl zu erzielen. Er hatte dabei die Vorstellung der Bildung einer Lipoidhülle um das einzelne Insulinmolekül. Die ausgeführten Versuche waren teils positiv, teils negativ und waren besonders den individuellen Schwankungen der Kranken unterworfen.

H. Bernhard und C. B. Strauch (16) konnten beim Kaninchen mit Insulin in Wasser-Oelemulsion keine Beeinflussung des Blutzuckers verzeichnen, obwohl sie sehr hohe Insulinmengen verwendeten.

Die eiweißverdauungshemmenden Stoffe, die nach Weinland im Blut und im Serum vorhanden sind, veranlaßten S. Peskind, I. M. Rogoff und G. N. Stewart (17) diese beiden als Schutz gegen die Verdauungsenzyme in den Dienst zu stellen. Sie erzielten am Kaninchen vom Rektum aus eine teilweise äußerst gute Resorption des Insulins, bei einzelnen Versuchen werden sogar hypo-

glykaemische Krämpfe beschrieben. Die Kontrollversuche mit physiologischer Kochsalzlösung + Insulin fielen immer negativ aus. Versuche unter denselben Umständen an Hunden ausgeführt, führten aus unbekannten Gründen zu keinem Resultat.

Eine weitere antifermentativ wirkende Substanz stellte Weinland 1903 im Ascaridenextrakt fest, auf dessen Vorhandensein der Schutz der Spulwürmer im Magen und Darm zurückzuführen ist. Dieses Schutzmittels bedienten sich für die perorale Insulintherapie B. K. Harned und Th. P. Nash (18). Sie beschrieben beim diabetischen Hund gelungene Blutzuckersenkungen, nicht dagegen bei normalen Tieren. Eine Nachprüfung der Versuche durch R. Werner (19) an normalen Kaninchen verlief negativ.

Neuen Gedankengängen folgen die Versuche von R. Werner (19) nach W. Schuler, die sich auf die Ferment-Theorie stützen. Nach dieser ist zur Verdauung des Insulins eine Bindung zwischen Ferment- und Insulinmolekül nötig. Wenn es nun gelingt die Molekülgruppe des Insulins, an die sich das Ferment ansetzen muß, anderweitig zu besetzen, so wäre theoretisch die Verdauung unmöglich gemacht. W. Schuler versuchte dies durch Zugabe von inaktiviertem Pepsin zu erreichen. Die Versuche von R. Werner in dieser Richtung zeigten eindeutige Blutzuckersenkungen am normalen Versuchskaninchen.

Ziel vorliegender Arbeit ist es nun vor allem gewesen, die genannten Versuche von R. Werner nachzuprüfen. Die Angabe R. Werners, daß Insulin unter Zusatz von inaktiviertem Pepsin rektal am Kaninchen verabreicht einwandfrei den Blutzucker zu senken vermag, konnte in einer größeren Versuchsreihe bestätigt werden.

Da R. Werner weiterhin fand, daß diese Insulinwirkung bis zu einem gewissen Grade nicht nur von der Menge des Insulins, sondern auch von der relativen Menge des zugesetzten Pepsins abhängig zu sein schien, sollten weitere und genauere Untersuchungen über die optimale Menge zuzusetzenden Pepsins zu einer bestimmten Insulinmenge Aufschluß geben. Unsere dementsprechenden Versuche ergaben, daß Pepsin in einer optimalen Mindestmenge von 60 mg. auf 20 Einheiten Insulin zu einer Senkung des Blutzuckers um 40 mg. % bei Kaninchen bei rektaler Verabreichung führt.

Obgleich Insulin unter dem Schutz einer entsprechenden inaktivierten Pepsinzusatzmenge rektal zur Resorption gelangt, entspricht die resorbierte Menge Insulins nicht der beim Versuch verabreichten. Da die resorbierte Insulinmenge eine geringere ist als die verabreichte, so ist die Schlußfolgerung berechtigt, daß, trotz der Schutz-

wirkung inaktivierten Pepsins, ein mehr oder minder großer Insulinzusatz im Darm der Zerstörung anheimfällt und daß diese Zerstörung anheimfällt und daß diese Zerstörung durch andere Faktoren bedingt sein muß, als die durch inaktivierten Pepsinzusatzes zu verhindernde. Es war naheliegend an die bekannte insulinzerstörende Wirkung von Bakterien des Dickdarmes zu denken.

Eine weitere Versuchsreihe geht daher von dem Grundgedanken aus die Wirkung der zahlreichen Bakterien des Dickdarmes durch entsprechende weitere Zusatzstoffe auszuschalten.

So wurden dem Pepsin-Insulingemisch verschiedene Antiseptica wie Nipasolnatrium, Chloreton und Carbol in der aus der Literatur ersichtlichen wirksamsten Konzentration zugesetzt. Versuche mit Nipasolnatrium und Chloretonzusatz zum Insulin-Pepsingemisch zeigten keine Verbesserung der Insulinwirkung. Die Versuche mit Carbolzusatz dagegen ergaben bei einem 1,2 %igen Carbolgehalt der verabreichten Versuchslösung eine Wirkungssteigerung, die jedoch nicht nur einer antiseptischen Wirkung, sondern auch dem durch den Carbolgehalt bedingten Schleimhautreiz zugeschrieben werden kann. Es kommt dieser durch Carbol bedingten Wirkungssteigerung praktisch wegen der Gefahr der Mitresorption des Carbols keine Bedeutung zu.

Auch durch einen Alkoholzusatz zum Insulin-Pepsingemisch war eine antiseptische Wirkung zu erwarten, darüber hinaus aber konnte durch Alkohol eine Hyperaemie der Darmschleimhaut und gleichzeitig eine Hemmung jeder Fermentwirkung angenommen werden. Wir haben daher dem Insulin-Pepsingemisch Alkohol in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Eine 20 %ige alkoholische Versuchslösung (Insulin-Pepsingemisch) bewirkte eine deutliche, wenn auch geringe Wirkungssteigerung.

Während in allen bisherigen Versuchen das von R. Werner erstmals erprobte inaktierte Pepsin zum Schutze des Insulins zur Verwendung kam, wurde in einigen Vorversuchen ein ganz neuer und andersartiger Gedankengang zur Verhütung der Insulinverdauung auf seine Verwertbarkeit geprüft.

Es ist aus der Fermentchemie lange bekannt, daß die bei einer Verdauung auftretenden Endprodukte hemmend auf die Verdauung einwirken. Daher haben wir als Schutzstoffe gegen die Insulinverdauung dem Insulin zugesetzt:

1. Die bei der Verdauung eines Eiweißkörpers auftretenden Abbaustoffe.
2. Durch Kochen inaktivierte Proteaselösungen.

Diese Versuche wurden peroral am Kaninchen und am Menschen durchgeführt. Bei den Versuchen am Kaninchen war in sämtlichen Bestimmungen ein deutliches Ansteigen des Blutzuckers zu erkennen, was sich durch Verdauung und Resorption der gegebenen Eiweißabbauprodukte erklären läßt. Die Ergebnisse der Versuche am Menschen sind immerhin auffallend, bedürfen aber der genaueren Nachprüfung.

Versuchsteil.

Versuchsanordnung:

Die verwendeten Versuchstiere waren normale Kaninchen, die, um jede Fehlerquelle der Ernährung auszuschalten, 24 Stunden lang vor dem Versuch hungerten. Die Versuchslösung wurde mittels eines weichen Gummischlauches etwa 10 cm hoch in das Rektum eingeführt. Wurde der Schlauch unter Hochhalten der hinteren Körperpartie des Tieres langsam wieder entfernt, so erfolgte sofort eine kräftige Kontraktion des Analringes, sodaß nur in ganz seltenen Fällen der Einlauf einmal teilweise wieder verloren ging. In den Versuchen mit peroraler Verabreichung der Versuchslösung wurde den Tieren, die aufrecht in einen oben nur für den Kopf offenen Kasten gesetzt waren, ein dünner langer Gummikatheter eingeführt. Die Lösung wurde dann entweder mit einem Trichter langsam einlaufen lassen, oder später einfach mit Hilfe einer Spritze in den Schlauch gegeben. Nach Entfernen des Schlauches trat nie Erbrechen der Versuchslösung ein. Bei den beiden Versuchen mit Menschen wurde die dünne Magensonde gelegt.

Als Methode der Blutzuckerbestimmung wurde die quantitative Methode nach H. C. Hagedorn und B. N. Jensen (20) verwendet, da diese eine sehr genaue Bestimmung bei nur 0,1 ccm Blutverbrauch ermöglicht. Bei jeder Untersuchung wurden stets zwei gleichlaufende Bestimmungen vorgenommen und der Mittelwert verzeichnet. Außerdem wurde vor jedem Versuch an jedem Versuchstier der Nüchternblutzucker nach 24 Stunden Hungerns bestimmt um einen genauen Maßstab für den nachher veränderten Blutzucker zu haben.

Der Blutzucker wurde bei den gezeichneten Versuchstieren genau jeweils nach der 1.—2. und 3. Stunde wieder bestimmt. An Insulin wurden verwendet: Insulin Degewop in Ampullen 5 ccm = 200 Einheiten. Ebenso Insulin Höchst 5 ccm = 200 Einheiten.

Versuche über den Nüchternblutzucker.

Von allen Versuchstieren wurde vorher nach 24 stündigem Hungern eine Nüchternblutzuckerkurve über 3 Stunden angelegt

um einen Test über die physiologischen Blutzuckerschwankungen zu haben. Die folgenden Leerversuche sind willkürlich herausgegriffen:

	Blutzucker in mgr %			
	8 Uhr	9 Uhr	10 Uhr	11 Uhr
Kaninchen Nr. 1	97	106	91	103
Kaninchen Nr. 2	108	103	101	106
Kaninchen Nr. 3	100	104	107	101
Kaninchen Nr. 4	103	94	90	93

Ergebnis: Wie in der Literatur angegeben liegt der Mittelwert des Blutzuckers beim Kaninchen um 100 mgr %. Die Schwankungen betragen oben im Höchstfalle 15 mgr %, dies dürfte teils auf die physiologischen Schwankungen des Blutzuckers, zum Teil aber sicher auf die Fehlerquellen der Versuchsmethodik zurückzuführen sein. In den Vollversuchen darf eine Blutzuckersenkung zwischen 10 und 15 mgr % nicht als durch Insulin bedingt angesehen werden.

Versuche mit subcutanen Insulin-Injektionen.

(am Kaninchen.)

Diese Versuche wurden gemacht um über die Ansprechbarkeit der Tiere auf Insulin ein Bild zu bekommen. Auch können die Werte als Maßstab für die nachfolgenden Versuche mit enteraler und peroraler Insulinverabreichung dienen. Die Versuche sind ebenfalls willkürlich herausgenommen.

Gegeben wurden je 4 Einheiten Insulin = 0,2 ccm + 0,8 ccm physiologische Kochsalzlösung unter die Haut gespritzt.

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
Kaninchen Nr. 3	121	38	73	120	—83
Kaninchen Nr. 6	110	41	57	57	—69
Kaninchen Nr. 5	96	49	62	62	—47
Kaninchen Nr. 4	103	36	52	50	—67

Ergebnis: Die sucutanen Insulin-Injektionen zeigen das prompte Reagieren der Versuchstiere. Die Blutzuckersenkung ist jedoch bei verschiedenen Tieren verschieden.

1. Versuchsreihe.

(Versuche mit rektal verabreichtem Insulin unter Zusatz verschiedener Mengen inaktivierten Pepsins.)

24 stündig gehungerten Kaninchen wurde rektal das Insulin-Pepsingemisch verabreicht.

Ansatz: Verschiedene Mengen Pepsin „Merk" in Pulverform wurden in je 4 ccm n/10 HCl gelöst und 10 Minuten im Wasserbad gekocht — dazu je 0,5 ccm = 20 Einheiten Insulin „Degewop" gegeben. Die Lösungen blieben immer klar.

Kan. Nr. 2	400 mgr	Pepsin	inakt.	+	20 E. Insulin
Kan. Nr. 4	200 mgr	Pepsin	inakt.	+	20 E. Insulin
Kan. Nr. 4	100 mgr	Pepsin	inakt.	+	20 E. Insulin
Kan. Nr. 5	60 mgr	Pepsin	inakt.	+	20 E. Insulin
Kan. Nr. 3	30 mgr	Pepsin	inakt.	+	20 E. Insulin

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
Kaninchen Nr. 2	113	79	85	99	—34
Kaninchen Nr. 4	104	63	66	71	—41
Kaninchen Nr. 4	95	55	?	101	—40
Kaninchen Nr. 5	100	61	79	102	—39
Kaninchen Nr. 3	104	68	99	107	—36

Ergebnis: In allen Fällen trat eine sehr deutliche Blutzuckersenkung auf. Die Senkungen betragen ca. 40 mgr %. Eine höhere Pepsinzusatzmenge bedeutet keine vermehrte Schutzwirkung für Insulin, mit anderen Worten Pepsin schützt Insulin vor der Verdauung in einer optimalen Mindestzusatzmenge von 60 mgr auf 20 E. Insulin. In den Folgeversuchen wurden deshalb durchwegs 60 mgr Pepsin (inaktiviert) verwendet.

2. Versuchsreihe.

(Versuche mit Zusatz verschiedener Antiseptica zum Insulin-Pepsingemisch.)

1. Nipasolnatrium-Zusatz:

Die Versuche wurden genau wie die vorhergehenden ausgeführt. Ansatz: 60 mgr inakt. Pepsin (in 4 ccm n/10 HCl) + 0,5 ccm Insulin = 20 E. + 0,5 ccm steriles H_2O. Diese Lösung wurde 0,2 %ig nipasolnatriumhaltig gemacht, da dies die für die Wirksamkeit gün-

stigste Konzentration sei. Es wurden zu je 5 ccm Lösung 0,025 ccm einer frisch bereiteten 40% igen Nipasolnatriumlösung gegeben und rektal verabreicht.

Kaninchen Nr. 9: 60 mgr inakt. Pepsin + 20 E. Insulin + 0,5 ccm steril. Wasser + 0,025 ccm Nipasolnatrium (40%)
Kaninchen Nr. 3: wie Nr. 9.
Kaninchen Nr. 6: genau wie oben, Versuchslösung jedoch vor Insulinzugabe 24 Stunden gestanden.
Kaninchen Nr. 7: wie Nr. 6 (Verlust von Zusatz!)

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
Kaninchen Nr. 9	109	78	109	109	—31
Kaninchen Nr. 3	102	48	60	68	—54
Kaninchen Nr. 6	117	76	108	110	—41
Kaninchen Nr. 7	104	76	92	97	(—28)

Ergebnis: Die allein durch inakt. Pepsin-Insulin bewirkte Blutzuckersenkung konnte durch Zusatz von Nipasolnatrium nicht vergrößert werden. Im letzten Versuch ging von der Versuchslösung wegen Unruhe des Tieres bei der Verabreichung verloren.

2. Chloreton-Zusatz:

Zubereitung des Insulin-Pepsingemisches wie früher. Die zu verabreichende Lösung wurde 0,3% ig chloretonhaltig gemacht. (Günstigste Chloretonwirkung).

Ansatz: 60 mgr Pepsin in 4 ccm n/10 HCl —10 Minuten gekocht. Dazu 0,5 ccm Insulin = 20 Einheiten + 0,5 ccm steril. Wasser. Zu je 5 ccm Lösung 0,03 ccm einer 50% igen Chloretonlösung = 0,3% ige chloretonhaltige Versuchslösung.

Herstellung der Chloretonlösung: 1,5 g Chloretonsubstanz gelöst in 3 ccm absoluten Alkohol = 50% ige Lösung. (Nicht wasserlöslich).

Kaninchen Nr. 8: 60 mgr inaktiviertes Pepsin + 20 E. Insulin + 0,5 ccm Wasser + 0,03 ccm Chloretonlösung (50%)
Kaninchen Nr. 1: genau wie Nr. 8.

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
Kaninchen Nr. 8	111	68	84	97	—43
Kaninchen Nr. 1	103	77	98	100	—26

Ergebnis: Chloreton bewirkte gegenüber den Versuchen mit Verabreichung des Pepsin-Insulingemisches allein keine Zusatzwirkung. Es ist fraglich, ob das Chloreton nach dem Ausfallen, wie es sich bei Zugabe zur Versuchslösung ereignete, als Antisepticum überhaupt noch wirksam bleibt.

3. Carbol-Zusatz:

Die Versuche wurden ebenfalls genau wie die früheren ausgeführt

Ansatz: 60 mgr Pepsin durch Kochen inaktiviert in 4 ccm n/10 HCl + 0,5 ccm (= 20 E.) Insulin + 0,5 ccm Wasser — dazu Carbol in verschiedenen Konzentrationen und die Lösung rektal gegeben.

a) 60 mgr inakt. Pepsin + 20 Einheiten Insulin + 0,5 ccm Aqu. dest. + 0,5 ccm einer 5% igen Carbollösung. Versuchslösung 0,5 % ig carbolhaltig.
b) wie a).
c) Pepsin-Insulingemisch wie oben + 0,95 ccm einer 5% igen Carbollösung. Versuchslösung 0,8 % ig carbolhaltig.
d) Innsulin-Pepsinmischung wie oben dazu 1,58 ccm der 5% igen Carbollösung. Versuchslösung 1,2 % ig carbolhaltig.
e) wie Versuch d).
f) Die gleiche Insulin-Pepsinmischung + 2,1 ccm der 5% igen Carbollösung. Versuchslösung 1,5 % ig carbolhaltig.

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
a) Kaninchen Nr. 7	100	71	79	82	—29
b) Kaninchen Nr. 3	98	85	99	98	—13
c) Kaninchen Nr. 9	102	88	106	103	—14
d) Kaninchen Nr. 2	131	66	61	128	—65
e) Kaninchen Nr. 10	125	58	110	103	—67
f) Kaninchen Nr. 11	99	59	61	92	—40

Ergebnis: Die Versuche a-b-c und f zeigen bei einem Carbolzusatz von 0,5 bis 0,8 und 1,5% keine größere Wirkung als mit dem Insulin-Pepsingemisch erzielt werden kann. Gründe warum bei den ersten Versuchen die Differenzwerte sogar unter denen der Insulin-Pepsingemische liegen sind nicht zu eruieren. Eine zweifellos deutliche Zusatzwirkung durch Carbol bedingt zeigen die beiden Versuche d und e mit einem Carbolgehalt von 1,2%. Praktisch kommt diesen Versuchen von der ganzen Versuchsreihe jedoch die

geringste Bedeutung zu, da mit einer Mitresorption von Carbol bei einem Dauergebrauch gerechnet werden muß. Außerdem muß betont werden, daß gerade bei diesen beiden Versuchen die Anfangswerte höher liegen als gewöhnlich, obwohl die Versuchstiere unter den selben Vorbedingungen gehalten wurden.

4. Alkoholzusatz:

Die Versuche wurden wieder mit 60 mgr (inakt.) und 20 E. Insulin durchgeführt. Technik und Herstellung der Lösung wie bisher.

Ansätze:

a) Pepsin-Insulingemisch wie angegeben, dazu 0,7 ccm absoluten Alkohol. Versuchslösung 1 5 % i g alkoholisch.
b) Pepsin-Insulingemisch + 1 ccm absoluten Alkohol. Versuchslösung 2 0 % i g alkoholisch.
c) genau wie b).
d) Versuchslösung wie üblich nur 3 0 % i g alkoholhaltig (2,05 ccm).
e) genau wie d).

	Ausgangswert	Blutzucker in mgr % nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Differenz n. 1 Std.
a) Kaninchen Nr. 7	116	80	95	95	—36
b) Kaninchen Nr. 6	105	61	91	99	—44
c) Kaninchen Nr. 2	118	61	70	96	—57
d) Kaninchen Nr. 9	127	108	106	100	—19
e) Kaninchen Nr. 7	91	66	71	100	—25

Ergebnis: Die ersten beiden Versuche lassen gegenüber den Pepsin-Insulinversuchen ohne Zusatz nichts besonderes erkennen. Der Versuch c zeigt eine wenn auch geringe Wirkungssteigerung. Die beiden letzten Versuche zeigen jedoch gegenüber den bloßen Insulin-Pepsinversuchen eine deutlich verminderte Insulinwirkung. Es muß dies als eine teilweise Verdauung der größeren Alkoholmenge gewertet werden, sodaß in diesen Versuchen nur eine geringe Insulinwirkung resultiert.

3. Versuchsreihe.

(Vorversuche über die Hemmung der Insulinverdauung bei peroraler Applikation durch peptische und tryptische Verdauungsprodukte).

Es wurden verwendet: 1. Die bei Pepsin-Trypsin-Verdauung eines Eiweißkörpers auftretenden Abbaustoffe.

2. Durch Kochen inaktivierte Pepsin+ Trypsinlösungen.

A. Verabreicht bei Kaninchen.

Versuchsausführung:

Lösungen: Kaseinlösung (Hammersten):

12 gr Kasein wurden mit 128 ccm H_2O angeteigt, dann langsam 72 ccm n/10 NaOH zugesetzt. 13 Std. gestanden.

Pepsinlösung:

2 gr Pepsin in 200 ccm n/3 HCl gelöst.

Trypsinkinaselösung:

2 gr Pankreasdrüsenpulver in 10 ccm Wasser mit 0,5 gr Darmschleimhautpulver zur Aktivierung des Trypsins versetzt —20 Minuten bei 38°.

I. Versuche mit Pepsin-Trypsin-Verdauungsgemisch.

Die Kasein- + Pepsinlösung wurden zusammen gegossen unter langsamen Umschütteln. Es entstand Trübung, jedoch kein Niederschlag. Diese Mischung wurde mit Toluol überschichtet und 48 Std. bei 38° C. stehen gelassen. (Thermostaten). Man kann nach früheren Versuchen annehmen, daß in dieser Zeit die Pepsinverdauung so gut wie beendet ist. (Pepsinverdauungsgemisch). Diese Pepsinverdauungslösung wurde daraufhin einer Trypsinverdauung unterzogen:

Das Verdauungsgemisch wurde mit 33% iger NaOH auf Ph 8,9 gebracht (etwa 9 ccm) und mit der Trypsinkinaselösung versetzt.

Unter Toluol 48 Stunden im Thermostaten bei 38 Grad gehalten. Um Ph 8,9 einzuhalten mußte wiederholt NaOH zugegeben werden. (Pepsin-Trypsin-Verdauungsgemisch.)

Dieses Verdauungsgemisch wurde im Scheidetrichter von Toluol befreit und mit ca. 25% iger HCl schwach lackmus-sauer gemacht. (ca. 6,6 ccm).

Dieses Verdauungsgemisch wurde zur Hälfte etwa 5 Minuten gekocht (gekochtes Verdauungsgemisch). Die andere Hälfte wurde ungekocht verwendet (ungekochtes Verdauungsgemisch).

Zu diesen Versuchen wurde durchwegs Insulin Höchst verwendet. (Pro Kaninchen 0,75 ccm = 30 Einheiten).

1. Kaninchen: 20 ccm ungekochtes Verdauungsgemisch, das 10 Minuten mit 30 E. Insulin vermischt, gestanden hatte. Oral!
2. Kaninchen: das gleiche wie 1.
3. Kaninchen: 20 ccm gekochtes Verdauungsgemisch + Insulin wie bei 1.
4. Kaninchen: das gleiche wie 3.

II. Versuche mit Pepsinverdauungsgemisch neben Pepsin-Trypsin-Verdauungsgemisch.

5. Kaninchen: 10 ccm Pepsinverdauungsgemisch (siehe unter I.) mit 10 ccm Pepsin-Trypsin-Verdauungsgemisch + 30 E. Insulin — 10 Minuten gestanden — oral verabreicht.
6. Kaninchen: Genau wie 5.
7. Kaninchen: Genau wie 1. nur rektal durch Gummischlauch gegeben.
8. Kaninchen: Wie 7. einige ccm gingen verloren beim Einlauf.
9. Kaninchen: Wie 3. rektal verabreicht.
10. Kaninchen: Wie 9. nur 0,7 ccm Insulin.

Hase / Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nüchtern blutzuck.	70	78	73	89	68	80	79	64	64	80
1 Std.	104	99	87	128	99	100	98	96	76	76
2 Std.	100	101	110	110	97	97	83	90	74	81
3 Std.	90	98	83	95	75	84	84	82	79	65
4 Std.	100	116	103	110	101	112	110	93	77	93

Ergebnis: Alle 10 Versuche zeigen leichtes Ansteigen des Blutzuckers nach Verabreichung der Verdauungsgemische mit Insulin. Insulin kommt hier nicht zur wirksamen Entfaltung. Die Steigerung kann nur im Sinne einer eingetretenen Verdauung der Eiweißkörper und dadurch bedingte Blutzuckersteigerung gedeutet werden. Die hier auffallend niederen Nüchternblutzuckerwerte sind wohl darauf zurückzuführen, daß in diesen Versuchen erstmals jüngere Tiere verwendet wurden, die anscheinend auf das 24 stündige Hungern stärker reagierten.

B. Versuche am Menschen.

Lösungen und Verdauungsgemische wie bei A.

Außerdem: 3 gr Pepsin in 20 ccm n/10 HCl gelöst und 5 Minuten gekocht (Pepsinlösung).
3 gr Pankreaspulver + 0,5 gr Darmschleimhautpulver in 20 ccm Wasser und nach 20 Minuten aufgekocht. (Trypsinlösung).

Zuckerkranke I. bekam durch die Magensonde:
100 ccm ungekochtes Pepsinverdauungsgemisch +
100 ccm Pepsin-Trypsinverdauungsgemisch ungekocht +
100 E. Insulin.

Zuckerkranke II. bekam durch die Magensonde:
100 ccm gekochtes Pepsinverdauungsgemisch +
100 ccm gekochtes Pepsin-Trypsinverdauungsgemisch +
20 ccm Pepsinlösung + 20 ccm Trypsinlösung + 100 Einheiten Insulin.

Patient	nüchtern	Sonde	Fütterung					
	8^{00}	9^{00}	9^{45}	10^{00}	10^{30}	11^{00}	11^{30}	13^{00}
I.	178	162		191	175	143	148	141
II.	243	217		237	225	208	189	187

Ergebnis: Senkung von 243 mgr % auf 187 mgr % = um 56 mgr % und von 187 auf 141 = um 37 mgr %.

Diese Blutzuckersenkung ist immerhin auffallend, aber noch in keiner Weise beweisend für eine Insulinwirkung, da Zuckerkranke innerhalb 30 Stunden in nüchternem Zustand häufig an sich eine ebenso starke Blutzuckersenkung zeigen.

Aus äußeren Gründen konnte bei den beiden Patienten der Blutzuckerverlauf nüchtern und ohne Insulinverabreichung per os nicht nachgeprüft werden.

Zusammenfassung:

1. Die schützende Eigenschaft des inaktivierten Pepsins gegen die Insulinverdauung konnte bestätigt werden. In allen diesbezüglichen Versuchen trat eine sichtbare Blutzuckersenkung ein.

2. Die Variation der Pepsinmenge ergab eine optimale Schutzwirkung bei einem Mengenverhältnis von 60 mgr inakt. Pepsin mit 20 Einheiten Insulin.

3. Die Versuche mit Zusatz der Antiseptica Nipasolnatrium und Chloreton ließen keine Wirkungssteigerung gegenüber den Versuchen mit Insulin-Pepsin allein erkennen.

Die ausgesprochene Zusatzwirkung der Carbolversuche (1,2% ig) muß außer einer antiseptischen Wirkung auch dem durch Carbol bedingten Schleimhautreiz zugeschrieben werden. Praktische Bedeutung der Wirkungssteigerung wegen der Gefahr der Mitresorption der Carbole unbedeutend.

4. Eine geringe Zusatzwirkung wurde durch Zusatz von Alkohol (20% ig) erreicht. Auch hier dürfte neben der antiseptischen

Wirkung die hyperämisierende auf die Schleimhaut und die Fermenthemmung im Darm eine gewisse Rolle spielen.

Die Versuche am Kaninchen mit Zusatz von peptischen und tryptischen Verdauungsprodukten zum Schutze des Insulins ließen keine schützende Eigenschaft erkennen.

5. Die Versuche am Menschen ließen zwar eine deutliche Blutzuckersenkung erkennen, diese können jedoch aus früher angeführten Gründen nicht ohne weiteres als Insulinwirkung gedeutet werden.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Werner Schuler für die freundliche Ueberlassung des Themas und die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung der Versuche herzlich danken.

Literatur-Verzeichnis.

1. F. Lasch und S. Brügel: Bioch. Zs. 181, S. 109 (1929).
2. W. Löwenstein und O. Merdinger: Wien. Arch. f. i. Med. Bd. 14, S. 523 (1927).
3. G. Samek: Z. exper. Med. 62, 707 (1928).
4. E. Dingemanse und E. Laqueur: Arch. f. exp. Path. 126, 31 (1927).
5. R. Stephan: Münch. Med. Wschr. 1929, 1579.
6. W. Fornet: Wien. klin. Wschr. 28, 1109 (1926).
7. P. Martini und W. Nagel: Münch. med. Wschr. 1930 (1909).
8. V. van der Reis und G. Schlomka: Münch. med. Wschr. 1930, 1012.
9. H. Steinitz: Klin. Wschr. 1930, 536.
10. R. Kühn: Dtsch. med. Wschr. 1930, 1341.
11. Blottner und Murph: Journ. amerc. med. Assoc. 92, Nr. 16 S. 1332 (1929).
12. Lancet: 220, S. 20 (1931).
13. Murlin, Pierce und Gregg: Amerc. Journ. Physiol. 90, 438 (1929).
14. F. Bertram, S. Horwitz u. E. Wahncau: Klin. Wschr. 1931, 1214.
15. E. Salén: Acta Med. Scand. 60, 74 (1924).
16. H. Bernhard und C. B. Strauch: Z. klin. Med. 104, 767 (1926).
17. S. Peskind, I. M. Rogoff u. G. N. Stewart: Amerc. Journ. Physiol. 68 530 (1924).
18. B. K. Harned und Th. P. Nash: jr. Journ. biol. Chem. 97, 443 (1932)
19. R. Werner: Inaug. Diss. Erlangen 1934.

Lebenslauf.

Ich, Grete Zimmermann, wurde als Tochter des im Weltkrieg verstorbenen Konrad Zimmermann und seiner Ehefrau Babette am 27. II. 1910 zu Erlangen geboren. Nach 4 Klassen Volksschule besuchte ich 9 Jahre die Oberrealschule in Erlangen und erwarb 1929 das Reifezeugnis. Anschließend studierte ich 6 Semester Medizin an der Universität Erlangen, das 7. Sem. an der Universität München. Die übrigen Semester wieder in Erlangen. Im Dezember 1934 legte ich hier die ärztliche Staatsprüfung ab. Vom 27. Dez. 1934 bis zum 31. Jan. 1936 befand ich mich zuerst als Medizinalpraktikantin und dann als Volontärärztin an der Univ. Klinik (Med. Abtl.) zu Erlangen.